



TITLE:

5-2 種の保存を目的としたニホンザル精子の凍結保存技術の確立(X.共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

楠, 比呂志

CITATION:

楠, 比呂志. 5-2 種の保存を目的としたニホンザル精子の凍結保存技術の確立(X.共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2005, 35: 100-101

ISSUE DATE:

2005-08-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/166144>

RIGHT:

体に手段—目的関係の理解の縦断研究を継続した。4歳においてチンパンジー成体と同じ成績に達した。

(本研究の一部は第16回日本発達心理学会「ものをあつかう知性の発達」シンポジウムで報告された。)

4-13 霊長類乳児における生物学的運動の認識と複数感覚様相を統合した種概念の発達

足立幾磨 (京都大・院・文)

本研究では、まずマカクザル乳児の生物学的運動の認識、およびその生得性を分析した。被験体には、個別飼育群・集団飼育群を用いた。ランダムに運動する光点の中にヒト或いはマカクザルの生物学的運動を示す光点が含まれている刺激を作成し、それを倒立させた刺激と対呈示した。その結果、各群とも、生後の視覚経験量が多い生物の正立運動に対し選好を示した。それと同時に、被験体の選好の発達の变化には群間に差が見られた。これは、同種の動きに対する選好に生得性があることを示唆する。

さらに、音声・視覚情報を統合した種認識を有しているかを分析した。被験体には上述の2群を用いた。同種或いはヒトの音声を呈示後、音声に一致、或いは不一致な写真をモニタ上に呈示し、被験体のモニタへの注視時間を測定・分析した。結果、集団飼育群の個体は、同じヒトの顔写真が呈示されているにも関わらず、不一致条件において、一致条件よりも有意に長く視覚刺激を注視した。これは彼らが同種の音声を知覚した際に、同種表象を想起したため、不一致な写真の呈示に対し期待違反が生じたことを示唆する。個別飼育群においては被験体数が少なく十分な結果は得られていない。引き続き実験を行う必要がある。

4-14 コンピュータ骨密度解析法によるチンパンジーの骨格発達と加齢

大野初江 (お茶の水女子大・院・人間文化)、
鵜殿俊史 (榊三和化学研究所・熊本霊長類パーク)

チンパンジーにおける中手骨の形態と骨密度の加齢変化を横断的に検討した。方法は通常X線写真と改変MD法(濃度計による直接計測でなくコンピュータ画像解析による Microdensitometry)である。被験体は榊三和化学研究所熊本霊長類パークおよび京大霊研飼育のチンパンジー49体(オス24体、メス25体、0~34才、平均17.4才)で、麻酔の上、左手をカセットに密着・粘着テープで固定し、ペネトロメータとともにレントゲ

ン写真を撮影した。画像をスキャナでコンピュータに取込み、画像解析ソフトを用いて中手骨長、骨体の幅、皮質厚及び骨密度を計測した。結果・考察：骨長、骨体幅、皮質厚はオスが有意($p=0.05$)に大きかったが、骨密度には有意な性差は見られなかった。年齢変化は、両性で12、3才まで成長が続き、その後は横ばいか、わずかに加齢に伴う減少傾向が見られた。これはオスよりメスで顕著であった。体格との関係は、両性ともに骨長と座高($r=0.78$)、骨長と骨盤幅($r=0.71$)の間に有意な相関が見られた。骨長幅示数などは、まだ高齢の材料が少なく回帰分析で傾向が捉え難いので来年度も同一個体を計測して変化を解析し加齢傾向を明らかにしたい。

5-1 テナガザルが発するソングの構造解析と種間比較

小田亮 (名古屋工業大・つくり領域)、

松本晶子 (沖縄大・人文)

テナガザルはテリトリー防衛のための「ソング」と呼ばれる音声レパートリーをもっている。本研究では、飼育下の数種のテナガザルを対象にソングを録音し、サウンドスペクトログラムを用いて分析した。その結果それぞれの種ごとの構造的な特徴と個体による変異がみられた。詳細については現在分析中である。テナガザルのソングにはデュエットがみられるが、このような構造化された音声の発声には、リズムの知覚と制御が重要な役割を果たしていると考えられる。リズム知覚については、動物園に飼育されているシロテナガザルがメトロノームの音に反応して発声したという例がある。しかしながらこの報告は予備的なものであるため、これを検証する実験を行った。飼育下のシロテナガザルのペアを対象とし、電子メトロノームとスピーカーを用いて規則的な音を呈示したが、音への発声による反応を示したのは最初だけであり、数回の呈示を経るとほとんど反応がみられなくなった。今後、電子音の高さを変化させる、実際のテナガザルの音声を加工したものを使うなどの方法を検討する必要があるだろう。

5-2 種の保存を目的としたニホンザル精子の凍結保存技術の確立

楠比呂志 (神戸大・農学)

希少動物の種の保存において、生殖子の凍結保存技術は有力な補助手段であるが、ウシなどの一部の家畜を除けば再現性のある方法が確立しているとは言い難いのが現状である。そこで代表研究者は、一昨年度

から、再現性の高いニホンザル精子の精液採取法と凍結保存技術の確立に関する研究を行っている。

これまでの研究で、電気刺激による精液採取法は確立したが、昨年度に引き続いての凍結保存法の開発は、シーズン初めの霊長研の分析装置の故障により、今年度は実施できなかった。

しかしながらこれまでの予備的な実験の結果から、ニホンザルにおける精子の至適凍結条件は、代表研究者が以前、チンパンジーで得た至適条件とはかなり異なり、希釈液と保存容器については、それぞれ修正 TTE とプラスチック製ストローが、また凍害防止剤については DMSO よりもグリセリンが好適で、その濃度は 2.5% が最適であった。また冷媒には、液体窒素ガスを用いて急速に凍結するほうが適当と思われる。今後、分析装置の再導入を待って、確認の実験を行いたい。

5-3 テナガザル類の Y 染色体解析用分子マーカーの作製

田口尚弘（高知大・黒潮圏海洋科学・海洋健康医科学）

染色体顕微切断法を使って、テナガザルの微小 Y 染色体を標的としたプローブの作製、およびクローニングを施行した。テナガザル Y 染色体から顕微切断で得られた DNA 断片を PCR で増幅し、得られた産物の由来部位を FISH 法で確認した。プローブ化した PCR 産物はテナガザルの微小 Y 染色体全体に分子雑種形成したので、プローブ作製の成功を確認できた。次にこのプローブの TA クローニングを行い、2 つのクローンからシークエンスを得ることができた。両者はほぼ同じ塩基配列であった。データベースでその塩基配列を検索したところ、チンパンジー Y 染色体で報告されているクローンと類似性を得た。また、ヒトの Y 染色体上の DAZ（無精子症欠失部）遺伝子中の反復配列と高度の類似性を示した。さらに、FISH 解析で、このプローブの存在部位の種間比較を行った。アカゲザル Y 染色体ではシグナルは得られなかったものの、チンパンジーとヒトの Y 染色体ではユークロマチン部分にシグナルが得られた。従って、このプローブは類人猿、ヒトの Y 染色体のマーカーとして有用であることが分かった。

5-4 霊長類培養細胞株の樹立

明里宏文（国立感染症研究所・筑波霊長類センター）

本研究では、報告者が以前確立した HVS 不死化法に基づく霊長類機能細胞の不死化技術を応用して、多

様な霊長類由来細胞株の樹立を試みた。その結果、今年度は新たに旧世界ザルとしてブタオザル（3 株）、新世界ザルとしてコモンマーモセット（2 株）、アカタマリニ（1 株）、コモンリスザル（1 株）、ヨザル（1 株）の樹立に成功した。昨年度までに独自に樹立したものと合わせて、これまでに 9 種類 26 細胞株が樹立されている。今後はアフリカミドリザル、ヨザル、コモンリスザル、テナガザル、フサオマキザル等の不死化細胞株の樹立を進めるとともに、それぞれの樹立細胞株についての特性解析を行う予定である。

本研究成果により、サル類による動物モデル研究・開発等トランスレーショナルリサーチにおいて、細胞レベルの解析が可能となる。このことは動物実験を極力避けるべきとする国際的傾向とも合致するものであり非常に有意義であると考えられた。

5-5 ヒト特異的機能遺伝子およびヒト特異的偽遺伝子の探索

郷康広（総合研究大学院大・先端科学）

本研究は、種の個別性・特異性の遺伝的基盤を明らかにするために、ヒトおよび旧世界ザルの各臓器において種特異的に発現している、もしくは発現していない（偽遺伝子化も含む）遺伝子を探索することを目的とした。

昨年度、方法を確立するために行った実験の結果、ヒト上皮細胞でマウス上皮細胞と比較した結果、発現が有意に低下している 51 個の候補遺伝子（多くの RNA 遺伝子を含む）を同定した。本年度は、その結果を受け、系統的によりヒトに近いマカク属を対象とし、より広範におよぶ解析をするために、各種臓器（肝臓・脾臓・脾臓・精巣・胎盤）の収集につとめた。また、遺伝子発現の個体差を考慮し、各臓器に対して、4 個体以上からのサンプルの収集を行い、RNA 抽出・cDNA 合成まで行った。すでに方法は確立されているので、次年度以降、引き続きのサンプル収集を行うとともに、実験・解析をすすめ、ヒト化に至る過程で発現が亢進・抑制された候補遺伝子を絞り込み、その生物学的・進化的な意味付けを行う。

5-6 霊長類染色体の 3 次元核内配置と核型進化・系統進化に関する研究

田辺秀之、宝来聡（総合研究大学院大・先端研・生命体）

本研究は、霊長類各種における核型分析データを参照しながら、間期核における染色体テリトリーの 3